مقاله پژوهشی

# بهبود رشد و تحریک مسیر بیوسنتز پلی‌فنل‌ها در بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) همزیست با میکوریز آربوسکولار

سیده زهره صادری[۱]، پروانه ابریشم‌چی[۱*]، علی گنجعلی[۱] و طیبه رجبیان[۲]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۱/۲۰)

## چکیده

**افزایش تقاضا برای استفاده از گیاهان دارویی، اهمیت دستیابی به روش‌های مؤثر جهت توسعه کشت و تولید این گیاهان را بیش از پیش افزایش داده است. همزیستی گیاهان دارویی با میکوریز آربوسکولار می‌تواند با تأثیر بر متابولیسم گیاه، الگوی تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه را تغییر دهد. بادرنجبویه، گیاه دارویی مهمی از خانواده نعناعیان است که از قرون وسطی برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود. در این مطالعه، تأثیر همزیستی بادرنجبویه با میکوریزهای *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* بر رشد، محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت برخی آنزیم‌های دخیل در سنتز این ترکیبات بررسی شد. بذرهای بادرنجبویه در خاک حاوی مایه تلقیح قارچ کاشته شدند. بعد از پنج ماه رشد در محیط کنترل‌شده، علاوه بر شاخص‌های رشد، محتوای فنل، فلاونوئید، اسیدهای فنلی و آنتوسیانین کل و مقدار رزمارینیک اسید، سالویانولیک اسید B و کافئیک اسید، هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمینوترانسفراز مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد بادرنجبویه همزیستی موفقیت‌آمیزی با گونه‌های قارچی دارد، هم‌چنین بیشترین درصد ریشه‌های آلوده به میکوریز و بهبود رشد در گیاهان همزیست با *G. mosseae* مشاهده شد. گیاهان همزیست نسبت به گیاهان شاهد از نظر محتوای پلی‌فنل‌ها و فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی افزایش چشمگیری را نشان دادند. براساس نتایج این مطالعه، به‌کارگیری میکوریز در کنار پیشبرد رشد گیاه، می‌تواند هم‌راستا با افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز پلی‌فنل‌ها، موجب بهبود محتوای این ترکیبات شود. این نتایج اهمیت همزیستی میکوریزایی را در ارتقای ارزش غذایی و دارویی بادرنجبویه تأیید می‌کنند.**

**واژه‌های کلیدی: بادرنجبویه، پلی‌فنل‌ها، میکوریز آربوسکولار، همزیستی**

## مقدمه

تولید و فرآوری گیاهان دارویی، به‌عنوان یک صنعت در حال توسعه، امروزه سهم مهمی در اقتصاد و تجارت جهانی دارد (Khan and Rauf, 2014; Singh, 2015). شرایط آب و هوایی و وجود اقلیم‌های مختلف در ایران، ظرفیت کشور را برای کشت و پرورش گیاهان دارویی قابل توجه کرده است (قاسمی دهکردی و همکاران، ۱۳۸۲؛ پورفرج و همکاران، ۱۳۹۷). بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L.، گیاهی دارویی از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که به‌طور عمده در شمال امریکا، شمال آفریقا، منطقه مدیترانه و غرب آسیا از جمله ایران

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: abrisham@um.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

پراکنش دارد (زرگری، ۱۳۹۰؛ Moradkhani *et al.*, 2010). این گونه، چند ساله و دارای ساقه چهارگوش و منشعب به ارتفاع ۳۰ تا ۱۲۰ سانتی‌متر، برگ‌های متقابل و قلبی شکل و چرخه‌های گل متعدد در قسمت فوقانی گیاه است (کیانی، ۱۳۸٦؛ مظفریان، ۱۳۹۱) که برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار آن به‌عنوان داروی گیاهی کاربرد دارند (صمصام شریعت، ۱۳۸٦). بادرنجبویه، از قرن چهارم میلادی برای درمان تشنج، سردردهای یک طرفه، سرگیجه، افسردگی و کم‌خونی استفاده می‌شد (زرگری، ۱۳۹۰). هم‌چنین امروزه به‌عنوان آرام‌بخش، ضداسپاسم، معرق، بادشکن و مقوی اعصاب در طب سنتی کاربرد دارد (Moradkhani *et al.*, 2010). خواص بیولوژیک بادرنجبویه نیز در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Moradi *et al.*, 2016; Ehsani *et al.*, 2017; Kluga *et al.*, 2017)؛ فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Koksal *et al.*, 2011; Mabrouki *et al.*, 2017)، ضدالتهابی (Bounihi *et al.*, 2013; Ozsoy *et al.*, 2017) و ضدسرطانی (Lin *et al.*, 2012; Gautam *et al.*, 2014) بادرنجبویه بارها گزارش شده است. هم‌چنین بررسی‌های مختلف، اثر بازدارندگی عصاره این گیاه را بر اسپاسم عضلانی (Sadraei *et al.*, 2003; Aubert *et al.*, 2019) و رشد ویروس‌ها (Pourghanbar, 2016; Jalali *et al.*, 2016) و باکتری‌ها (Sener *et al.*, 2017; Mabrouki *et al.*, 2017) تأیید کرده‌اند. به‌طور کلی روغن اسانسی و ترکیبات پلی‌فنلی مسئول بسیاری از خواص بیولوژیک عصاره بادرنجبویه هستند (Farahani *et al.*, 2009) که در این بین نقش بارز ترکیبات پلی‌فنلی از جمله فلاونوئیدها (Johari *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2019; Jaisinghani, 2017) و اسیدهای فنلی (Tepe, 2008; Wang and Hu, 2010; Sharmila and Manoharan, 2012) در فعالیت‌های دارویی بادرنجبویه طی مطالعات مختلف اثبات شده است.

با توجه به خواص چشمگیر متابولیت‌های ثانویه و افزایش تقاضا برای استفاده از این ترکیبات، بررسی روش‌های مختلف جهت ارتقای کمی و کیفی این مواد مؤثره اهمیت ویژه‌ای دارد (Zubek *et al.*, 2015). بر پایه برخی مطالعات همزیستی قارچ‌های میکوریز با گیاهان دارویی می‌تواند بر کمیت و کیفیت ترکیبات دارویی تأثیر معنی‌داری بگذارد (Zeng *et al.*, 2013; Pandey *et al.*, 2018). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شوند که ارتباط نزدیکی بین گیاه و خاک ایجاد می‌کنند (Kawaguchi and Minamisawa, 2010) از دیدگاه فیزیولوژی، همزیستی بر پایه یک رابطه دو طرفه بنا شده است. قارچ همزیست با گسترش ریسه‌های خارج سلولی، جذب مواد معدنی مانند فسفر، آهن و روی را افزایش می‌دهد و گیاه نیز کربن آلی مورد نیاز قارچ را تأمین می‌کند (Azcon-Aguilar *et al.*, 2009). گزارش‌های متعددی در مورد بهبود رشد گیاهان همزیست با گونه‌های مختلف میکوریز آربوسکولار ارائه شده است. برای مثال، افزایش معنی‌دار رشد اندام هوایی و ریشه در گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) همزیست با *G. mosseae* (Abdel Latef and Chaoxing, 2011) و ذرت (*Zea mays*) میکوریزی‌شده با *G. intraradices* (Zhao *et al.*, 2015) گزارش شده است. همزیستی میکوریزایی علاوه بر ارتقای رشد، بر محتوای متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی تأثیرگذار بوده است. افزایش فنل کل در گل آهار (*Zinnia elegans*) همزیست با *G. mosseae* (Heidari *et al.*, 2016)، ارتقای محتوای مشتقات بنزوئیک اسید در زعفران (*Crocus sativus*) تلقیح‌شده با ترکیبی از *G. mosseae* و *G. intraradices* (Caser *et al.*, 2019) و بهبود محتوای فلاونوئید روتین و پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید در بنفشه سه برگ (*Viola tricolor*) میکوریزی‌شده با *Rhizophagus irregularis* (Zubek *et al.*, 2015) نیز حاکی از تأثیر مثبت قارچ‌های آربوسکولار بر بیوسنتز ترکیبات فنلی مختلف هستند.

همزیستی با میکوریز می‌تواند با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسئول بیوسنتز ترکیبات پلی‌فنلی، مانند فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL, EC 4.3.1.24) و تیروزین آمینوترانسفراز (TAT, EC 2.6.1.5) محتوای این ترکیبات را افزایش می‌دهد (Song *et al.*, 2015). آنزیم PAL، آنزیم کلیدی شروع‌کننده مسیر فنیل پروپانوئید است که تبدیل فنیل‌آلانین به سینامیک

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

اسید را کاتالیز می‌کند (Hyun *et al.*, 2008). این آنزیم، نقطه انشعاب میان متابولیسم اولیه و ثانویه است و پیش‌ماده لازم برای بیوسنتز اغلب ترکیبات فنلی را تأمین می‌کند (Ferrer *et al.*, 2011). آنزیم TAT نیز اولین آنزیم کلیدی مسیر بیوسنتز اسیدهای فنلی، در شاخه مشتق‌شده از تیروزین است که تیروزین را به ٤- هیدروکسی فنیل پیرورویک اسید تبدیل می‌کند (Ru *et al.*, 2017). پس از همزیستی با میکوریز، ارتقای محتوای کل فنل در پیاز (*Allium cepa*) (Mollavali *et al.*, 2015)، فلاونوئید در فلفل سیاه (*Piper nigrum*) (Li *et al.*, 2015) و اسیدهای فنلی در نارنج سه برگ (*Poncirus trifoliata*) (Trindade *et al.*, 2019) هم‌راستا با افزایش فعالیت آنزیم PAL گزارش شده است. طبق مطالعه Blilou و همکاران (۲۰۰۱) محتوای سالیسیلیک اسید و بیان ژن PAL نیز در برنج (*Oryza sativa*) همزیست با *G. mosseae* افزایش یافت.

علی‌رغم اهمیت دارویی گونه بادرنجبویه، تأثیر همزیستی میکوریز بر رشد این گونه موضوع مقالات اندکی بوده است (Zakerian *et al.*, 2014; Engel *et al.*, 2016). هم‌چنین بررسی محتوای ترکیبات فنلی در بادرنجبویه‌های همزیست با میکوریز محدود به پژوهش Engel و همکاران (۲۰۱٦) است؛ این محققان گزارش کردند که میکوریزی‌شدن بادرنجبویه با مخلوطی از چندین گونه قارچی از جمله *G. intraradices* موجب افزایش معنی‌دار محتوای برخی اسیدهای فنلی در این گیاه می‌شود. با این حال، در خصوص تأثیر میکوریز بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز ترکیبات فنلی بادرنجبویه تاکنون مطالعه‌ای انجام نشده است.

بنابراین این پژوهش، با هدف بررسی تأثیر همزیستی قارچ‌های *G. mosseae* و *G. intraradices* با گیاه بادرنجبویه، بر رشد و مقدار ترکیبات فنلی با ارزش دارویی [شامل محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و اسیدهای فنلی کل و مقدار رزمارینیک اسید (RA)، سالویانولیک اسید B (SALB) و کافئیک اسید (CA)] انجام شد. در ادامه برای اولین بار فعالیت دو آنزیم مهم PAL و TAT در بادرنجبویه‌های میکوریزی‌شده مطالعه شدند تا نقش دو مسیر مشتق‌شده از فنیل‌آلانین و مشتق‌شده از تیروزین در گیاهان همزیست مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر همزیستی قارچ‌های میکوریز بر رشد و ترکیبات فنلی گیاه بادرنجبویه، آزمایشی با تلقیح دو گونه میکوریز شامل *G. mosseae* (Gm) و *G. intraradices* (Gi)، تلقیح مخلوط مساوی این دو گونه میکوریز (Gmi) و تیمار شاهد (عدم‌کاربرد میکوریز (NAM)) به‌صورت طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

**کاشت بذرها و شرایط رشد گیاه:** بذرهای بادرنجبویه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و با اتانول ۷۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۰/۱۲۵٪ ضدعفونی شدند (Soltani *et al.*, 2016). مایه تلقیح دو قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices* از کلینیک گیاه پزشکی ارگانیک اسدآباد (حاوی ۱۲۰۰۰ اسپور در ۱۰۰ گرم مایه تلقیح) تهیه شدند. ابتدا مخلوط شن- لوم با نسبت حجمی مساوی آماده و اتوکلاو شد. به‌ازای هر کیلوگرم خاک، ۱۰۰ گرم مایه تلقیح درعمق سه سانتی‌متری از سطح گلدان قرار گرفت و بذرهای ضدعفونی‌شده در عمق یک سانتی‌متری از سطح خاک کاشته شدند. گلدان‌ها در اتاقک رشد با دمای ۱°C ± ۲٤ در روز و ۱°C ± ۱۹ در شب، شدت نور ۳٤۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ و فتوپریود ۱٤ ساعت نور و ۱۰ ساعت تاریکی قرار گرفتند. گیاهچه‌ها روزانه با آب‌مقطر و به‌صورت هفتگی با محلول غذایی هوگلند تغییریافته (شامل ۲۰ میکرومولار فسفات پتاسیم) آبیاری شدند (Floss *et al.*, 2013). برداشت اندام هوایی و ریشه گیاهان، ۵ ماه بعد از کاشت بذرها و در مرحله رویشی انجام شد. نمونه‌های برداشت‌شده براساس نوع آنالیز در دمای اتاق خشک یا بعد از هموژن در نیتروژن مایع، در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

**تعیین درصد ریشه‌های آلوده به میکوریز (درصد کلونیزاسیون ریشه):** پس از خروج گیاه از خاک، ریشه‌ها

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

بلافاصله شسته شدند و در فیکساتور FAA (حاوی فرمالین ۳۷٪، اسید استیک گلاسیال و اتانول ۷۰٪ به نسبت حجمی ۹۰:۵:۵) قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی ریشه‌های تثبیت‌شده با استفاده از محلول تریپتان بلو در لاکتوفنل (۰/۰۵ w/v٪) مطابق روش Phillips و Hayman (۱۹۷۰) انجام شد و درصد ریشه‌های آلوده به قارچ برپایه تقاطع شبکه‌ای محاسبه شدند (Giovannetti and Mosse, 1980).

**تعیین شاخص‌های رشد:** ارتفاع ساقه، طول ریشه اصلی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان اندازه‌گیری شد. مجموع سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Light Box, ADC, UK) و مجموع سطح ریشه با استفاده از دستگاه اسکنر متصل به کامپیوتر (Delta–T Scan, UK) و نرم‌افزار Root Edge، مورد محاسبه قرار گرفت.

**استخراج ترکیبات فنلی:** ابتدا ۰/۲۵ گرم از پودر خشک‌شده برگ یا ریشه به ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ اضافه شد. این مخلوط به‌مدت ۳۵ دقیقه در دستگاه فراصوت ( D- 12207, Bandelin, Germany) قرار گرفت و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد ( Ghasemzadeh *et al.*, 2014). روشناور حاصل برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی و سنجش محتوای RA، SALB و CA مورد استفاده قرار گرفت. استخراج کل آنتوسیانین با استفاده از نمونه تازه برگ یا ریشه انجام شد. ابتدا ۰/۱ گرم از برگ و یا ریشه در نیتروژن مایع پودر شد، سپس با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۹۹:۱) همگن گردید. عصاره به‌دست آمده به‌مدت ۲٤ ساعت در تاریکی و دمای آزمایشگاه قرار گرفت و از روشناور به‌دست آمده برای سنجش مقدار آنتوسیانین کل استفاده شد ( Krizek *et al.*, 1998).

**تعیین محتوای فنل کل:** محتوای فنل کل به روش Singleton و همکاران (۱۹۹۹) و با استفاده از معرف فولین سیوکالتو (۱۰ v/v٪) اندازه‌گیری شد. غلظت‌های مختلف (۲۰-۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) از محلول پایه گالیک اسید (۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، جهت رسم منحنی استاندارد تهیه شدند. غلظت فنل کل با استفاده از منحنی استاندارد (y= 0. 0046 x - 0.0136, R2= 0.9989) و بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک نمونه گیاهی (mg GAE/g DW) مورد محاسبه قرار گرفت.

**تعیین محتوای فلاونوئید کل:** اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل به روش Chang و همکاران (۲۰۰۲)، توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (UV/Visible, Jasco, Japan ۷۸۰۰) در طول‌موج ٤۱۵ نانومتر انجام شد. با استفاده از محلول پایه کوئرستین (۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) غلظت‌های مختلف (۲/۵-۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) از این محلول پایه برای رسم منحنی استاندارد آماده شد. غلظت فلاونوئید کل با استفاده از منحنی استاندارد (y = 0.0052x - 0.0025, R2= 0.9991) و بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک نمونه گیاهی (mg QE/g DW) مورد محاسبه قرار گرفت.

**تعیین محتوای اسیدهای فنلی کل:** محتوای اسیدهای فنلی کل طبق روش Matkowski و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از معرف آرنو و دستگاه طیف‌سنج نوری (UV/Visible, ۷۸۰۰ Jasco, Japan) در طول‌موج ٤۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محلول پایه رزمارینیک اسید (۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد و غلظت‌های مختلف (۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) از این محلول پایه، تهیه شدند. غلظت اسیدهای فنلی کل با استفاده از منحنی استاندارد ( y= 2/9031x, R2= 0/9944) و بر حسب میلی‌گرم رزمارینیک اسید در گرم وزن خشک نمونه گیاهی (mg RAE/g DW) مورد محاسبه قرار گرفت.

**تعیین محتوای آنتوسیانین کل:** سنجش محتوای آنتوسیانین کل براساس روش Krizek و همکاران (۱۹۹۸) توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (UV/Visible, Jasco, Japan ۷۸۰۰) در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر انجام شد. مقدار این ترکیب با استفاده از ضریب خاموشی $cm^{-1}M^{-1}$ ۳۳۰۰۰ و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر نمونه گیاهی (µmol/g FW) مورد محاسبه قرار گرفت.

**شناسایی و تعیین محتوای برخی اسیدهای فنلی گیاه با**

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

**استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)**: جهت شناسایی و سنجش محتوای رزمارینیک اسید، سالویانولیک اسید B و کافئیک اسید، از دستگاه HPLC (Smartline, Kenuer, Germany) مجهز به پمپ‌های چهارگانه و ستون فاز معکوس C18 Eurospher-100، به ابعاد ۱۲۵mm × ٤mm، با اندازه ذرات ۵µm و یک آشکارساز UV-VIS (مدل D1416) استفاده شد. توسط نرم‌افزار ChromGate (ویرایش ۳/۱) داده‌ها مورد پردازش قرار گرفتند. برای شستشوی ستون از برنامه زمانی با شیب خطی شامل دو سیستم حلال استفاده شد؛ حلال A شامل آب اسیدی‌شده با استیک اسید (v/v) ۲٪ و حلال B شامل استونیتریل بود. حلال‌ها قبل از استفاده، از فیلترهای استات سلولز و PTFE (قطر منافذ ۰/٤۵ میکرومتر) عبور داده شدند. هر تزریق حاوی ۲۰ میکرولیتر عصاره (با غلظت ٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود. آشکارسازی نمونه‌ها در طول‌موج ۲۸۰ نانومتر و با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد (فتوت و همکاران، ۱۳۹۳). منحنی‌های استاندارد RA، SALB و CA ( yRA= 41606x, R2= 0.996; ySalB= 2196/7x + 3/763, R2= 0.999; yCA= 7149.3x, R2= 0.999) با استفاده از محلول‌های پایه RA، SALB و CA با غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر در اتانول رسم شدند و درنهایت محتوای اسیدهای فنلی محاسبه و ثبت شد.

**استخراج و تعیین پروتئین‌های محلول**: نمونه‌های برگ و ریشه پودرشده در نیتروژن مایع (۰/۱ گرم) با ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج سرد همگن شد. بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=٦) شامل EDTA ۲ میلی‌مولار، DTT ٤ میلی‌مولار و PVP ۲٪ به‌عنوان بافر استخراج پروتئین استفاده شدند. عصاره حاصل با سرعت ۱۳۰۰۰ rpm به‌مدت ۲۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای سنجش مقدار پروتئین و فعالیت آنزیم‌های PAL و TAT مورد استفاده قرار گرفت (Yan *et al.*, 2006). سنجش پروتئین‌های محلول در عصاره براساس روش Bradford (۱۹۷٦) و با استفاده از سرم آلبومین گاوی، به‌عنوان استاندارد، انجام شد.

**تعیین فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز**: فعالیت آنزیم PAL براساس روش Yan و همکاران (۲۰۰٦) تعیین شد. مخلوط واکنش با حجم نهایی ٤ میلی‌لیتر شامل ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، بافر بورات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۸/۸)، فنیل‌آلانین ۲۰ میلی‌مولار و آب بدون یون بود. جذب محلول در ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (Specol, 1500/1, Germany) خوانده شد. فعالیت ویژه آنزیم PAL توسط ضریب خاموشی ترانس سینامیک اسید (۹٦۳۰ $cm^{-1}M^{-1}$) و برحسب میکرومول فرآورده تولیدشده (ترانس سینامیک اسید) به‌ازای یک میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ($\mu mol\ mg\ pr^{-1}\ min^{-1}$) مورد محاسبه قرار گرفت.

**تعیین فعالیت آنزیم تیروزین آمینوترنسفراز**: فعالیت آنزیم TAT به روش Lopukhina و همکاران (۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر شامل EDTA ۰/۷۵ میلی‌مولار، تیروزین ۵/۵ میلی‌مولار، پیریدوکسال ۵- فسفات ۰/۱ میلی‌مولار و آلفاکتو گلوتاریک اسید ۱۰ میلی‌مولار در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵) ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱٤۰ میکرولیتر هیدروکسید پتاسیم ۱۰ مولار بود. جذب مخلوط واکنش در طول‌موج ۳۳۱ نانومتر خوانده شد. فعالیت ویژه آنزیم TAT با استفاده از ضریب خاموشی ٤- هیدروکسی بنزآلدهید (۱۱۹۹۰۰ $cm^{-1}M^{-1}$) و بر حسب میکرومول فرآورده تولیدشده (٤- هیدروکسی بنزآلدهید) به‌ازای یک میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ($\mu mol\ mg\ pr^{-1}\ min^{-1}$) مورد محاسبه قرار گرفت.

تجزیه آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) توسط نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۲۳) انجام شد و میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P\leq 0.05$) مقایسه شدند.

## نتایج

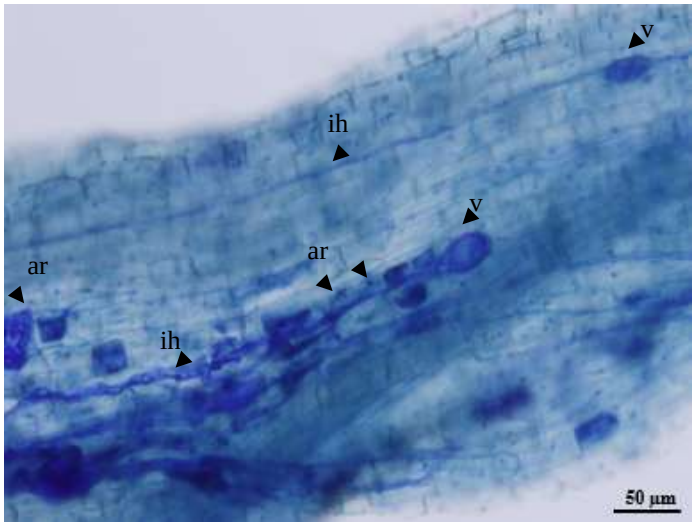
**درصد کلونیزاسیون ریشه**: گونه میکوریز و نیز کاربرد انفرادی و توأم دو گونه *G. mosseae* و *G. intraradices* تأثیر معنی‌داری بر درصد کلنی‌سازی ریشه داشتند. بادرنجبویه‌های همزیست با *G. mosseae* بیشترین درصد ریشه‌های آلوده به میکوریز (۳/۹۳ ± ۵۵/۹۱) را در این مطالعه به‌خود اختصاص

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

**جدول ۱- تأثیر همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر شاخص‌های رشد گیاه بادرنجبویه**

| تیمار | درصد کلونیزاسیون ریشه | طول ساقه اصلی | طول ریشه اصلی | وزن خشک اندام هوایی | وزن خشک ریشه | مجموع سطح برگ | مجموع سطح ریشه |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | (cm) | | (g) | | ($cm^2$) | |
| NAM | - | ۱۹/٦۰$^{d}$ | ۲۱/۸۲$^{c}$ | ۱/٦۱$^{c}$ | ۰/۵۵$^{d}$ | ۹۸۳/۰$^{c}$ | ۷۸/٤۲$^{c}$ |
| Gm | ۵۵/۹۱$^{a}$ | ۲۷/۰۳$^{a}$ | ۲۸/۸٤$^{a}$ | ۲/۲٦$^{a}$ | ۰/٦۹$^{a}$ | ۱۳٦٤/٤$^{a}$ | ۱۰۰/۰۵$^{a}$ |
| Gi | ۳٤/٦۱$^{c}$ | ۲۲/۹۷$^{c}$ | ۲٤/٦۷$^{b}$ | ۱/۹۵$^{b}$ | ۰/٦۲$^{c}$ | ۱۱۵۵/۵$^{b}$ | ۸۹/۵٦$^{b}$ |
| Gmi | ٤۸/۳۰$^{b}$ | ۲٤/۰۰$^{b}$ | ۲٤/۵۹$^{b}$ | ۱/۹۳$^{b}$ | ۰/٦٦$^{b}$ | ۱۱۹۷/٤$^{b}$ | ۹۷/۱٤$^{a}$ |

**NAM: گیاهان غیرمیکوریزی؛ Gm: گیاهان همزیست با *G. mosseae*؛ Gi: گیاهان همزیست با *G. intraradices*؛ Gmi: گیاهان همزیست با *G. mosseae* و *G. intraradices* به‌صورت توأم. داده‌ها میانگین سه تکرار هستند. در هر ستون، گروه‌های واجد حروف یکسان، مطابق آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ($P\leq 0.05$) ندارند.**




**شکل ۱- ساختارهای قارچی میکوریز آربوسکولار در ریشه‌های رنگ‌آمیزی‌شده بادرنجبویه همزیست با *G. mosseae*. ih: هیف داخلی قارچ؛ ar: آربوسکول v: وزیکول.**

دادند. این شاخص در گیاهان همزیست با مخلوط *G. mosseae* و *G. intraradices* (Gmi)، برتری معنی‌داری نسبت به گیاهان تلقیح‌شده با *G. intraradices* به تنهایی داشت. به این ترتیب کمترین درصد کلنی‌سازی میکوریز (٤/۸۹ ± ۳٤/٦۱) در ریشه‌های گیاهان همزیست با *G. intraradices* مشاهده شد (شکل ۱ و جدول ۱).

**تأثیر میکوریز بر شاخص‌های مورفولوژیکی گیاه:** صفات رشدی مورد بررسی در این مطالعه، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر میکوریز قرار گرفت. تأثیر قارچ *G. mosseae* در بهبود رشد گیاه نسبت به گونه *G. intraradices* به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. هم‌چنین کاربرد توأم دو گونه میکوریز (Gmi) نسبت به حضور *G. intraradices* به تنهایی، موجب افزایش بیشتر پارامترهای رشد شد و در اغلب موارد این برتری معنی‌دار بود. ارتفاع ساقه (۳۷/۹ درصد)، طول ریشه (۳۲/۱ درصد)، وزن خشک اندام هوایی (٤۰/۱ درصد) و ریشه (۲۷/۱ درصد)، مجموع سطح برگ (۳۸/۹ درصد) و ریشه (۲۷/٦ درصد) در گیاهان همزیست با *G. mosseae* نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان دادند. رشد اندام هوایی بادرنجبویه نسبت

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

به ریشه بیشتر تحت تأثیر همزیستی میکوریزایی قرار گرفت. در این راستا، بیشترین و کمترین تأثیر این همزیستی به‌ترتیب به وزن خشک اندام هوایی (۲/۲٦ g) و ریشه (۰/٦۲ g) گیاه مربوط بود (جدول ۱).

**تأثیر میکوریز بر محتوای فنل، فلاونوئید، اسیدهای فنلی و آنتوسیانین کل:** محتوای فنل، فلاونوئید، اسیدهای فنلی و آنتوسیانین کل در برگ گیاهان شاهد، به‌ترتیب ۳/۹، ٤، ۱/۹ و ۳ برابر ریشه این گیاهان بود. میکوریز بر مقدار این ترکیبات در برگ و ریشه گیاهان همزیست تأثیر مثبت داشت. به‌طوری که محتوای فنل و فلاونوئید کل در برگ و ریشه بادرنجبویه میکوریزی‌شده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین مقدار فنل و فلاونوئید کل به گیاهان همزیست با *G. mosseae* مربوط بودند، که به‌ترتیب در برگ ۱۱/۵ و ۲۲/۳ و در ریشه ۱۵/٦ و ٤۷/۱ درصد افزایش را نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند. کاربرد *G. intraradices* به تنهایی و کاربرد توأم دو گونه میکوریز (Gmi) نیز موجب افزایش مقدار این ترکیبات شد، ولی این تغییر در برگ معنی‌دار نبود. مقدار اسیدهای فنلی کل برگ، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر همزیستی با میکوریز قرار نگرفت، اما در ریشه، این همزیستی موجب افزایش معنی‌دار محتوای اسیدهای فنلی کل شد. گیاهان تلقیح‌شده با *G. mosseae*، بیشترین مقدار اسیدهای فنلی کل ریشه (۱۵/۲۳ mgRAE/g DW) را نشان دادند. همزیستی بادرنجبویه با میکوریز موجب افزایش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین کل برگ شد، اما بر مقدار این گروه از ترکیبات فنلی در ریشه تأثیری نداشت. مقدار کل آنتوسیانین در برگ‌های گیاهان تلقیح‌شده با هر دو گونه (Gmi) به بیشترین مقدار خود (۱۳۸/۵۱ µmol/g FW) رسید که حاکی از ۱۸/۲ درصد افزایش نسبت به گیاهان شاهد است. کمترین مقدار آنتوسیانین برگ (۱۱۷/۱۷ µmol/g FW) نیز در گیاهان شاهد مشاهده شد. کاربرد انفرادی هر یک از انواع میکوریز، تأثیر معنی‌دار بر مقدار این گروه از ترکیبات فنلی در برگ نداشت. (جدول ۲).

**تأثیر میکوریز بر محتوای برخی اسیدهای فنلی:** آنالیز HPLC، حضور سه اسید فنلی رزمارینیک اسید، سالویانولیک اسید B و کافئیک اسید را در برگ‌های بادرنجبویه میکوریزی و غیرمیکوریزی آشکار ساخت. با این حال، در ریشه گیاهان شاهد و میکوریز، فقط RA و CA یافت شد. محتوای RA (۳/۳۳ ± ۰/۰۵ mgRAE/g DW) و CA (mgCAE/g DW ۰/۱٤ ± ۰/۷۱) در برگ گیاهان شاهد به‌ترتیب ۱/۷ و ۲/۲ برابر مقادیر به‌دست آمده برای ریشه بود. همزیستی با میکوریز با تأثیر بر مقدار این ترکیبات، موجب تغییر این نسبت‌ها شد، به‌طوری که در گیاهان همزیست با *G. mosseae* این نسبت‌ها به ۲/۲ و ۱/۲ تغییر کرد. تلقیح گیاهان با قارچ‌های میکوریز تأثیر مثبت و معنی‌داری بر محتوی RA در برگ و ریشه گیاه داشت. هم‌چنین میکوریزی‌شدن با قارچ‌های مورد بررسی، موجب افزایش مقدار SALB و کاهش مقدار CA در برگ شد، اما این تغییرات معنی‌دار نبودند. گیاهان تلقیح‌شده با *G. mosseae* نسبت به سایر تیمارها، برتری معنی‌داری را در مقدار RA برگ (۰/۰۸ ± ۵/۱۷ mgRAE/g DW) و ریشه (۰/۰۳ ± ۲/۳۳ mgRAE/g DW) نشان دادند که به‌ترتیب حاکی از ۵۵/۵ و ۱۷/۸ درصد افزایش نسبت به گیاهان شاهد بود. کاربرد *G. intraradices* به تنهایی و کاربرد توأم هر دو قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices* نیز مقدار RA را در برگ و ریشه ارتقا داد اما این افزایش در برگ معنی‌دار نبود (شکل ۲).

**تأثیر میکوریز بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمینوترنسفراز:** فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و تیروزین آمینوترنسفراز در برگ گیاهان شاهد، به‌ترتیب ۱/۷ و ۳/٦ برابر ریشه بود. میکوریز از طریق تأثیر بر فعالیت این آنزیم‌ها در برگ و ریشه موجب تغییر این نسبت‌ها به ۱/۹ و ۳/۷ برابر در گیاهان همزیست با *G. mosseae* شد. آنزیم PAL نسبت به TAT بیشتر تحت تأثیر همزیستی میکوریزایی قرار گرفت. میکوریز به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم PAL و TAT را در برگ و ریشه گیاهان افزایش داد. بیشینه فعالیت آنزیم‌های PAL و TAT در گیاهان تلقیح‌شده با *G. mosseae* مشاهده شد که به‌ترتیب در برگ ٤۲/٦ و ۱۷/۸ و در ریشه ۳۱/۰ و ۱۰/٦ درصد افزایش را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد.

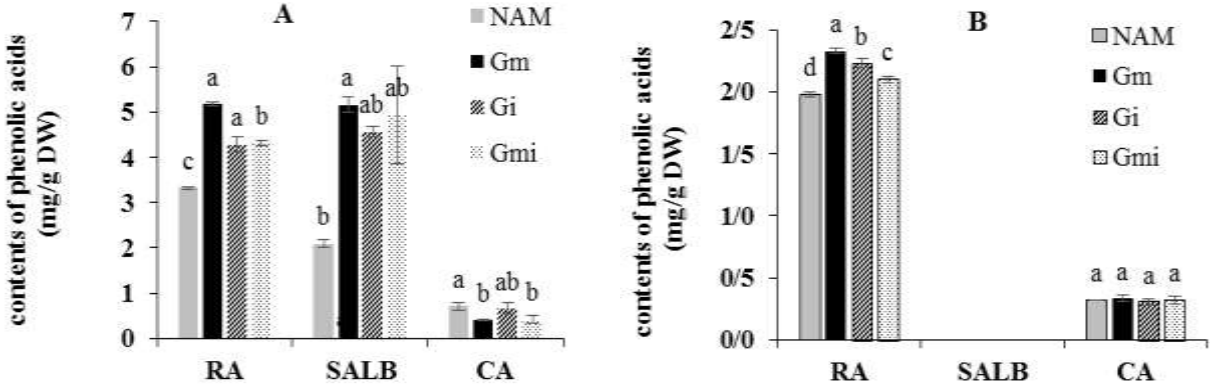
[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

**جدول ۲- تأثیر همزیستی با میکوریز آربوسکولار بر محتوای فنل، فلاونوئید، اسیدهای فنلی و آنتوسیانین کل برگ و ریشه گیاه بادرنجبویه**

| تیمار | فنل کل (mg GAE/g DW) | | فلاونوئید کل (mg QE/g DW) | | اسیدهای فنلی کل (mg RAE/g DW) | | آنتوسیانین کل (µmol/g FW) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | برگ | ریشه | برگ | ریشه | برگ | ریشه | برگ | ریشه |
| NAM | ۳۲/۳۶$^{b}$ | ۸/۲۶$^{b}$ | ۱۰/۰۹$^{b}$ | ۲/۵۱$^{c}$ | ۲۰/۷۱$^{b}$ | ۱۱/۱۵$^{c}$ | ۱۱۷/۱۷$^{c}$ | ۳۹/۰۱$^{b}$ |
| Gm | ۳۶/۰۹$^{a}$ | ۹/۵٤$^{a}$ | ۱۲/۳۳$^{a}$ | ۳/٦۹$^{a}$ | ۲۳/٦۸$^{a}$ | ۱۵/۲۳$^{a}$ | ۱۲۹/٦۷$^{b}$ | ٤۲/٦۳$^{a}$ |
| Gi | ۳۳/٤۸$^{b}$ | ۹/۵۳$^{a}$ | ۱۰/۵۰$^{b}$ | ۲/۷۳$^{bc}$ | ۲۱/٦۱$^{ab}$ | ۱۳/٦۲$^{ab}$ | ۱۲۷/٦٤$^{b}$ | ٤۰/۱۰$^{ab}$ |
| Gmi | ۳۳/۷۰$^{b}$ | ۸/٦٤$^{ab}$ | ۱۰/۷۸$^{b}$ | ۳/۲۲$^{ab}$ | ۲۱/٦۸$^{ab}$ | ۱۱/۹۰$^{bc}$ | ۱۳۸/۵۱$^{a}$ | ٤۲/۵۸$^{a}$ |

**NAM: گیاهان غیرمیکوریزی؛ Gm: گیاهان همزیست با *G. mosseae*؛ Gi: گیاهان همزیست با *G. intraradices*؛ Gmi: گیاهان همزیست با ترکیبی از *G. mosseae* و *G. intraradices* به صورت توام. داده‌ها میانگین سه تکرار می‌باشند. در هر ستون، گروه‌های واجد حروف یکسان، مطابق آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری ($P\leq 0.05$) ندارند.**




**شکل ۲- تأثیر همزیستی با میکوریز آربوسکولار بر محتوای رزمارینک اسید (RA)، سالویانولیک اسید B (SALB) و کافئیک اسید(CA) برگ (A) و ریشه (B) گیاه بادرنجبویه. NAM: گیاهان غیرمیکوریزی؛ Gm: گیاهان همزیست با *G. mosseae*؛ Gi: گیاهان همزیست با *G. intraradices*؛ Gmi: گیاهان همزیست با ترکیبی از *G. mosseae* و *G. intraradices*. داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای معیار هستند. در هر ستون، گروه‌های واجد حروف یکسان، با توجه به آزمون دانکن، تفاوت معنی‌دار ($P\leq 0.05$) ندارند.**

فعالیت آنزیم‌های PAL (۲/۵۹ µmol mg pr$^{-1}$ min$^{-1}$) و TAT (۰/۸٤ µmol mg pr$^{-1}$ min$^{-1}$) در برگ گیاهان *G. mosseae*، به بیشترین مقدار خود رسید و ریشه گیاهان شاهد کمترین فعالیت آنزیم‌های PAL (۱/۰٦ µmol mg pr$^{-1}$ min$^{-1}$) و TAT (۰/۱۹ µmol mg pr$^{-1}$ min$^{-1}$) را نشان دادند (شکل ۳).

بررسی ضریب همبستگی پیرسون میان محتوای ترکیبات فنلی مورد مطالعه و فعالیت آنزیم‌های PAL و TAT نشان داد که در برگ و ریشه، مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین کل و محتوای RA با فعالیت آنزیم‌های PAL و TAT و مقدار اسیدهای فنلی کل با فعالیت آنزیم PAL همبستگی معنی‌دار و مثبت دارند و یک همبستگی منفی نیز بین مقدار CA و فعالیت PAL و TAT در برگ مشاهده شد (جدول ۳).

## بحث

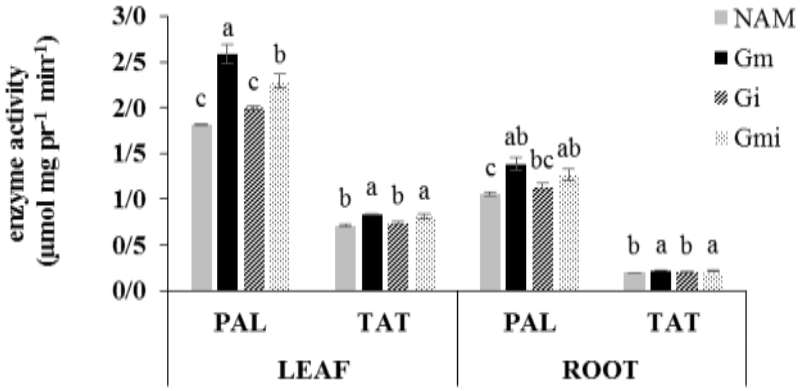
همزیستی بین گیاه و میکوریز آربسکولار، از دیدگاه تبارزایشی و بوم‌شناسی، گسترده‌ترین برهمکنش سودمند بین گیاهان و میکرواورگانیسم‌ها است (Harrison, 2005; Kawaguchi and Minamisawa, 2010). قارچ‌های آربوسکولار با بیش از ۸۰٪ از گونه‌های گیاهی شناخته‌شده رابطه همزیستی برقرار می‌کنند (Kawaguchi and Minamisawa, 2010). نتایج مطالعه حاضر،

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

**جدول ۳- ضریب همبستگی پیرسون بین ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) و تیروزین آمینوترنسفراز (TAT) در برگ و ریشه گیاهان بادرنجبویه**

| بافت | آنزیم | فنل کل | فلاونوئید کل | اسیدهای فنلی کل | آنتوسیانین کل | رزمارینیک اسید | سالویانولیک اسید B | کافئیک اسید |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| برگ | PAL | ۰/۵۲$^{ns}$ | ۰/۹۳$^{**}$ | ۰/۶۰$^{*}$ | ۰/۶۵$^{*}$ | ۰/۸۷$^{**}$ | ۰/۵٤$^{ns}$ | −۰/۶۸$^{*}$ |
| | TAT | ۰/٤۷$^{ns}$ | ۰/۷۳$^{**}$ | ۰/۳۳$^{ns}$ | ۰/۶۵$^{*}$ | ۰/۷۳$^{**}$ | ۰/۳۸$^{ns}$ | −۰/۶۱$^{*}$ |
| ریشه | PAL | ۰/٤۰$^{ns}$ | ۰/۹۹$^{**}$ | ۰/۷٤$^{**}$ | ۰/۷۵$^{**}$ | ۰/۶٤$^{*}$ | - | ۰/۱۳$^{ns}$ |
| | TAT | ۰/٤۵$^{ns}$ | ۰/۸٤$^{**}$ | ۰/۵٤$^{ns}$ | ۰/۹۶$^{**}$ | ۰/۶۶$^{*}$ | - | ۰/٤۶$^{ns}$ |

**ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ درصد و معنی‌دار در سطح ۱ درصد هستند.**




**شکل ۳- تأثیر همزیستی با میکوریز آربوسکولار بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) و تیروزین آمینوترنسفراز (TAT) برگ و ریشه گیاهان بادرنجبویه. NAM: گیاهان غیرمیکوریزی؛ Gm: گیاهان همزیست با *G. mosseae*؛ Gi: گیاهان همزیست با *G. intraradices*؛ Gmi: گیاهان همزیست با ترکیبی از *G. mosseae* و *G. intraradices*. داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای معیار هستند. در هر ستون، گروه‌های واجد حروف یکسان، با توجه به آزمون دانکن، تفاوت معنی‌دار ($P\leq 0.05$) ندارند.**

برقراری رابطه همزیستی بین گونه بادرنجبویه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار را تأیید کرد، که با مطالعات قبلی هم‌خوانی داشت؛ Karagiannidis و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که بادرنجبویه‌های رشدیافته در شمال یونان با گونه‌های میکوریز آن منطقه رابطه همزیستی برقرار کرده‌اند. براساس مطالعه Zubek و همکاران (۲۰۱۲) بادرنجبویه با ۷ گونه میکوریز از خانواده *Glomeraceae* همزیست شد. بر پایه نتایج ما، قارچ *G. mosseae*، در برقراری رابطه همزیستی با بادرنجبویه موفق‌تر از *G. intraradices* عمل کرد، هم‌چنین حضور *G. mosseae* در کنار *G. intraradices* موجب تقویت اثر *G. intraradices* و افزایش درصد آلودگی گیاه به میکوریز شد. این نتایج، مشابه با پاسخ نوعی یونجه (*Medicago truncatula*) به حضور انفرادی و توأم قارچ‌های *G. mosseae* و *G. intraradices* در مطالعه Jansa و همکاران (۲۰۰۸) است. به‌دلیل رقابت بین قارچ‌ها، حضور بیشتر از یک گونه میکوریز در ریزوسفر گیاه کاهش درصد کلنی‌سازی در ریشه را به‌همراه دارد. با این حال، حضور یک میکوریز مؤثر با توانایی برقراری رابطه همزیستی قوی، مانند *G. mosseae*، می‌تواند موجب تحریک مخلوط میکوریزها برای جوانه‌زنی و رشد هیف شود (Lu *et al.*, 2015). غالب‌بودن قارچ *G. mosseae* در مقایسه با *G. intraradices* در همزیستی با نعناع (*Mentha arvensis*) (Bharti *et al.*, 2013)، بارهنگ (*Plantago*

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

*lanceolata*) (Martin *et al.*, 2012) و توت سفید (*Morus alba*) (Lu *et al.*, 2015) نیز گزارش شده است. خصوصیاتی مانند طول هیف و توانایی گسترش آن در گیاه میزبان، هم‌چنین قابلیت قارچ در انتقال مواد مغذی (Wang *et al.*, 2018) و سرعت قارچ در تشکیل اجتماعات قارچ- ریشه (Trouvelot *et al.*, 2015) بر یک همزیستی موفق تأثیرگذارند.

از مهم‌ترین ویژگی‌های یک همزیستی موفق میکوریزی، بهبود شاخص‌های رشدی است. ارتفاع ساقه، طول ریشه اصلی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه و مجموع سطح برگ و ریشه در بادرنجبویه‌های همزیست در این مطالعه نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی افزایش معنی‌داری داشتند. به‌صورت مشابه با این نتایج همزیستی با *G. mosseae*، موجب افزایش طول ساقه و ریشه *Salvia miltiorrhiza* (Yang *et al.*, 2017) و بهبود وزن خشک اندام هوایی و ریشه ریحان (*Ocimum basilicum*) (Toussaint *et al.*, 2008) شد. افزایش سطح برگ شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) (Yadav *et al.*, 2013) و سطح ریشه نارنج سه برگ (Zou *et al.*, 2014) نیز پس از همزیستی با میکوریز گزارش شده است. هیف‌های خارج سلولی میکوریز با تحریک رشد طولی و گسترش سطح ریشه، مورفولوژی آن را در جهت جذب بهتر آب و عناصر کم‌تحرک تغییر می‌دهند (Fellbaum *et al.*, 2014; Baslam *et al.*, 2011). در کنار تقویت جذب و انتقال آب و مواد معدنی، هم‌چنین نقش میکوریز در گسترش سطح برگ (Miranda *et al.*, 2011; Songachan and Kayang, 2018) موجب افزایش توان فتوسنتزی و رشد در گیاهان همزیست می‌شود (Xu *et al.*, 2018). از طرف دیگر، استفاده قارچ از ۲۰ درصد کربوهیدرات تولیدشده گیاه، گیاه همزیست را به تولید مجدد کربن آلی وادار می‌نماید (Chen *et al.*, 2017a). هم‌چنین میکوریز با تأثیر مثبت بر جذب، انتقال و تثبیت نیتروژن (Kobae *et al.*, 2010; Jin *et al.*, 2012; Hashem *et al.*, 2018) و گوگرد (Allen and Shachar Hill, 2009; Zhu *et al.*, 2015) به رشد بهتر گیاه کمک می‌کند. از طرف دیگر، نقش میکوریز در افزایش محتوای هورمون‌های گیاهی مانند اکسین (Sieh *et al.*, 2013)، سیتوکینین (Miransari *et al.*, 2014)، جیبرلین (Yurkov *et al.*, 2017)، موجب بهبود شاخص‌های رشد می‌شود.

ارتقای متابولیسم ثانویه در گیاهان میکوریزی‌شده به‌دنبال بهبود متابولیسم اولیه روی می‌دهد (Lu *et al.*, 2015). افزایش مقدار ترپنوئیدهای مرزنجوش (*Origanum* sp.) (Khaosaad *et al.*, 2006)، ترکیبات فنلی آویشن (*Thymus vulgaris*) (Zayova *et al.*, 2017)، آلکالوئیدهای گل پریوش (*Catharanthus roseus*) (Andrade *et al.*, 2013) و گلوکوزینولات‌های گز روغنی (*Moringa oleifera*) (Cosme *et al.*, 2014) بعد از همزیستی با میکوریز گزارش شده است. به‌دنبال همزیستی بادرنجبویه با میکوریز، محتوای ترکیبات فنلی در این مطالعه افزایش یافت. هم‌راستا با این نتایج، افزایش محتوای فنل و فلاونوئید کل در ریحان (Hristozkova *et al.*, 2017) و مقدار کل فنل، اسیدهای فنلی و آنتوسیانین در شلغم (*Brassica rapa*) میکوریزی‌شده گزارش شد (Khalid *et al.*, 2017). ارتقای محتوای ترکیبات فنلی در ریشه بادرنجبویه‌های همزیست در این پژوهش، نسبت به اندام هوایی چشمگیر بود. در واقع، در مقایسه با اندام هوایی، ریشه می‌تواند نسبت بیشتری از کربوهیدرات خود را صرف سنتز ترکیبات ثانویه کند (Stevens *et al.*, 2010). همین امر ممکن است دلیل رشد کمتر ریشه بادرنجبویه‌های همزیست با میکوریز مطالعه ما، نسبت به اندام هوایی باشد که مشابه با پاسخ رشدی توت فرنگی‌های (*Fragaria* × *ananassa*) میکوریزی‌شده در مطالعه Boyer و همکاران (۲۰۱۵) بود. از طرف دیگر، به‌طور معمول میکوریز کربوهیدرات مورد نیاز خود را از نزدیک‌ترین اندام گیاه، یعنی ریشه، دریافت می‌کند که می‌تواند دلیل دیگری بر کاهش رشد ریشه نسبت به اندام هوایی به حساب آید (Stevens *et al.*, 2002). افزایش معنی‌دار مقدار رزمارینیک اسید در این مطالعه با نتایج مطالعات دیگر هم‌خوانی داشت. ارتقای مقدار RA در برگ و ریشه ریحان (Toussaint *et al.*, 2008; Srivastava *et al.*, 2016) و ریشه مریم گلی (*Salvia officinalis*) (Nell *et al.*, 2009) بعد از همزیستی با میکوریز

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

گزارش شده است. اگرچه مشابه با نتایج این مطالعه، همزیستی با *G. mosseae* موجب افزایش مقدار SALB در *Salvia miltiorrhiza* (Chen *et al.*, 2017b) و کاهش محتوای CA در گوجه‌فرنگی (Lopez-Raez *et al.*, 2010) شد، اما تغییرات ذکرشده در مطالعه حاضر معنی‌دار نبودند.

حضور سلول‌های بیگانه قارچ، در مراحل اولیه کلنی‌سازی در ریشه موجب بروز طیفی از اتفاقات بیوشیمیایی و سلولی در گیاه می‌شود (Requena *et al.*, 2007; Song and Kong, 2012). یکی از پاسخ‌های گیاه به حضور میکوریز، افزایش بیوسنتز ترکیبات فنلی است (Caser *et al.*, 2019). ترکیبات پلی‌فنلی ساخته‌شده توسط گیاهان، با تأثیر بر جوانه‌زنی اسپور، رشد هیف‌های قارچی و تحریک کلنی‌سازی قارچ در ریشه‌ها، در فرآیند میکوریزی‌شدن گیاه نقش دارند (larose *et al.*, 2002; Scervino, 2005; Ngonkeu *et al.*, 2017). هم‌چنین این ترکیبات می‌توانند در مسیر پاسخ به حضور قارچ، به‌عنوان مولکول علامت‌رسان عمل کنند (Engel *et al.*, 2016). ارتقای سنتز ترکیبات فنلی، در نتیجه افزایش میزان فتوسنتز در گیاهان میکوریزی‌شده و متعاقب آن، افزایش متابولیسم اولیه روی می‌دهد (Lattanzio *et al.*, 2009). ترکیبات قندی تولیدشده در فتوسنتز می‌توانند به‌عنوان سوبسترا برای سنتز اسکلت هیدروکربنی ترکیبات فنلی استفاده شوند یا طی فرآیند تنفس شکسته‌شده و انرژی لازم برای سنتز این ترکیبات را فراهم کنند (Li *et al.*, 2017).

پس از همزیستی بادرنجبویه با میکوریز، در کنار ارتقای محتوای ترکیبات فنلی، فعالیت آنزیم‌های مسیر سنتز پلی‌فنل‌ها افزایش یافت، به‌طوری که بین محتوای برخی از ترکیبات فنلی مطالعه‌شده و فعالیت آنزیم‌های PAL و TAT همبستگی مثبت مشاهده شد. هم‌راستا با این نتایج، در سنبل الطیب (*Valeriana jatamansi*) (Jugran *et al.*, 2015) و مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) (Mirjani *et al.*, 2019) نیز همزیستی با میکوریز، موجب افزایش محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم PAL شد. همزیستی با *G. intraradices* نیز، القای بیان ژن TAT در ریحان (Battini *et al.*, 2016) و افزایش محتوای پروتئین TAT را در پروتئوم گیاه سیاه ناوافشان (*Puccinellia tenuiflora*) (Wang *et al.*, 2019) در پی داشت. گسترش سطح ریشه در کنار افزایش ناقل‌های نیترات و آمونیوم، بهبود جریان نیتروژن را در گیاهان همزیست موجب می‌شوند (Tian *et al.*, 2010). هم‌چنین میکوریز با القای بیان ژن‌هایی که در تثبیت نیتروژن نقش دارند، پیشرفت تثبیت این ماده معدنی و درنهایت بهبود مقدار اسیدهای آمینه از جمله فنیل‌آلانین و تیروزین، را در پی دارد (Jin *et al.*, 2012). برای مثال، افزایش محتوای تعدادی از اسیدهای آمینه از جمله فنیل‌آلانین و تیروزین در انگور (*Vitis vinifera*) همزیست با مخلوطی از میکوریزهای مختلف از جمله *G. mosseae* و *G. intraradices* (Torres *et al.*, 2019)، هم‌چنین گندم (*Triticum aestivum*) میکوریزی‌شده با *G. mosseae* (Fiorilli *et al.*, 2018) گزارش شده است. بنابراین افزایش مقدار اسیدهای آمینه فنیل‌آلانین و تیروزین که پیش‌ساز ترکیبات فنلی هستند می‌تواند موجب ارتقای فعالیت آنزیم‌های مسیر مانند PAL و TAT و در ادامه افزایش محتوای ترکیبات فنلی شود (Jugran *et al.*, 2015; Engel *et al.*, 2016).

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که همزیستی با میکوریز، به‌ویژه *G. mosseae*، روی رشد و محتوای ترکیبات فنلی گیاه بادرنجبویه تأثیر مثبت دارد. با توجه به خواص دارویی چشمگیر ترکیبات فنلی بادرنجبویه و افزایش معنی‌دار محتوای کل فنل، فلاونوئید، اسیدهای فنلی و آنتوسیانین و به‌خصوص مقدار رزمارینیک اسید در گیاه میکوریزی‌شده، می‌توان همزیستی با میکوریز را روشی تأثیرگذار و سودمند برای کشت و پرورش گیاهانی با ارزش دارویی تقویت‌شده به حساب آورد. از طرف دیگر، با توجه به رابطه مستقیم بین مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه (Zhao *et al.*, 2014)، تجمع پلی‌فنل‌ها با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، موجب افزایش مقاومت گیاه همزیست برای مقابله با شرایط تنش‌زا می‌شود. بنابراین همزیستی با میکوریز علاوه بر افزایش

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

مقاومت گیاه در مقابل تنش‌های محیطی، می‌تواند با ارتقای کمی و کیفی مواد مؤثره گیاه، تقاضا برای تولیدات دارویی را پوشش دهد.

**تشکر و قدردانی**

مطالعه حاضر، با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد (به شماره ۳/۳۷۹۵۵) برای پایان‌نامه دکتری فیزیولوژی گیاهی انجام شده است. نویسندگان هم‌چنین از آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شاهد برای آنالیز HPLC و پژوهشکده گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد برای خدمات بی‌دریغ‌شان تشکر می‌کنند.

**منابع**

پورفرج، ج.، اکبرزاده، م.، شاهرخی، ش. و نورافکن، ح. (۱۳۹۷) کیفیت اسانس بابونه آلمانی در سه حوضه آبریز ارسباران، آذربایجان شرقی، ایران. فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی ۱٤: ٦٨-٥٩.

زرگری، ع. (۱۳۹۰) گیاهان دارویی. جلد ۵، مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

صمصام شریعت، س. ه. (۱۳۸٦) گزیده گیاهان دارویی. چهارباغ، تهران.

فتوت، م.، رجبیان، ط.، صبورا، ع.، رنجبر، م. و اجتهد، ر. س. (۱۳۹۳) بررسی مقایسه‌ای محتوای رزمارینیک اسید و سالویانولیک اسیدهای A و B در ٤ گونه مریم‌گلی (*Salvia* L.) خودروی ایران. مجله پژوهش‌های گیاهی ۲۷: ۹۳٦-۹۲۷.

قاسمی دهکردی، ن.، سجادی، س. ا.، قنادی، ع.، امن‌زاده، ی.، آزادبخت، م.، اصغری، غ.، امین، غ.، حاجی‌آخوندی، ع. و طالب، ا. (۱۳۸۲) فارماکوپه گیاهی ایران. تحقیقات نظام سلامت حکیم ٦: ٦٩-٦٣.

کیانی، ک. (۱۳۸٦) کتاب اطلس مصور گیاهان دارویی، زر قلم، تبریز.

مظفریان، و. (۱۳۹۱) شناسایی گیاهان دارویی و معطر ایران. فرهنگ معاصر، تهران.

Abdel Latef, A. A. H. and Chaoxing, H. (2011) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. Scientia Horticulturae 127: 228-233.

Allen, J. and Shachar-Hill, Y. (2009) Sulfur transfer through an arbuscular mycorrhiza1. Plant Physiology 149: 549-560.

Andrade, S. A. L., Malik, S., Sawaya, A. C. H. F., Bottcher, A. and Mazzafera, P. (2013) Association with arbuscular mycorrhizal fungi influences alkaloid synthesis and accumulation in *Catharanthus roseus* and *Nicotiana tabacum* plants. Acta Physiologiae Plantarum 35: 867-880.

Aubert, P., Guinobert, I., Blondeau, C., Bardot, V., Ripoche, I., Chalard, P. and Neunlist, M. (2019) Basal and spasmolytic effects of a hydroethanolic leaf extract of *Melissa officinalis* L. on intestinal motility: An ex vivo study. Journal of Medicinal Food 22: 653-662.

Azcon-Aguilar, C., Barea, J. M., Gianinazzi, S. and Gianinazzi-Pearson, V. (2009) Mycorrhizas-functional processes and ecological impact. Springer-Verlag, Berlin.

Baslam, M., Garmendia, I. and Goicoechea, N. (2011) Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved growth and nutritional quality of greenhouse-grown lettuce. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59: 5504-5515.

Battini, F., Bernardi, R., Turrini, A., Agnolucci, M. and Giovannetti, M. (2016) *Rhizophagus intraradices* or its associated bacteria affect gene expression of key enzymes involved in the rosmarinic acid biosynthetic pathway of basil. Mycorrhiza 26: 699-707.

Bharti, N., Baghel, S., Barnawal, D., Yadav, A. and Kalra A. (2013) The greater effectiveness of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* in improving productivity, oil content and tolerance of salt-stressed mentholmint (*Mentha arvensis*). Journal of the Science of Food and Agriculture 93: 2154-2161.

Blilou, I., Ocampo, J. A. and Garrido, J. M. G. (2001) Induction of Ltp (lipid transfer protein) and Pal (phenylalanine ammonia-lyase) gene expression in rice roots colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Journal of Experimental Botany 51: 1969-1977.

Bounihi, A., Hajjaj, G., Alnamer, R., Cherrah, Y. and Zellou, A. (2013) In Vivo potential anti-inflammatory activity of *Melissa officinalis* L. essential oil. Advances in Pharmacological Sciences 2013: 1-7.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

Boyer, L. R., Brain, P., Xu, X. M. and Jeffries, P. (2015) Inoculation of drought-stressed strawberry with a mixed inoculum of two arbuscular mycorrhizal fungi: Effects on population dynamics of fungal species in roots and consequential plant tolerance to water deficiency. Mycorrhiza 25: 215-227.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Caser, M., Demasi, S., Victorino, I. M. M., Donno, D., Faccio, A., Lumini, E., Bianciotto, V. and Scariot, V. (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi modulate the crop performance and metabolic profile of saron in soilless cultivation. Agronomy 9: 1-19

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis 10: 178-182.

Chen, M., Yang, G., Liu, D., Li, M., Qiu, H., Guo, L., Huang, L. and Chao, Z. (2017a) Inoculation with *Glomus mosseae* Improves the growth and salvianolic acid b accumulation of continuously cropped *Salvia miltiorrhiza*. Applied Sciences 7: 1-12.

Chen, S., Zhao, H., Zou, C., Li, Y., Chen, Y., Wang, Z., Jiang, Y., Liu, A., Zhao, P., Wang, M. and Ahammed, G. J. (2017b) Combined inoculation with multiple arbuscular mycorrhizal fungi improves growth, nutrient uptake and photosynthesis in cucumber seedlings. Frontiers in Microbiology 8: 1-11.

Cosme, M., Franken, P., Mewis, I., Baldermann, S. and Wurst, S. (2014) Arbuscular mycorrhizal fungi affect glucosinolate and mineral element composition in leaves of *Moringa oleifera*. Mycorrhiza 24: 565-570.

Ehsani, A., Alizadeh, O., Hashemi, M., Afshari, A. and Aminzare, M. (2017) Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of *Melissa officinalis* and *Dracocephalum moldavica* essential oils. Veterinary Research Forum 8: 223-229

Engel, R., Szabo, K., Abranko, L., Rendes, K., Fuzy, A. and Takacs, T. (2016) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and polyphenol profile of marjoram, lemon balm, and marigold. Journal of Agricultural and Food Chemistry 64: 3733-3742.

Fellbaum, C. R., Mensah, J. A., Cloos, A. J., Strahan, G. E., Pfeffer, P. E., Kiers, E. T. and Bucking, H. (2014) Fungal nutrient allocation in common mycorrhizal networks is regulated by the carbon source strength of individual host plants. New Phytologist 203: 646-656.

Ferrer, J. L., Austin, M. B., Stewart Jr, C. and Noel, J. P. (2011) Fungal and plant phenylalanine ammonia-lyase. Mycobiology 39: 257-265.

Fiorilli, V., Vannini, C., Ortolani, F., Garcia-Seco, D., Chiapello, M., Novero, M., Domingo, G., Terzi, V., Morcia, C., Bagnaresi, P., Moulin, L., Bracale, M. and Bonfante, P. (2018) Omics approaches revealed how arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances yield and resistance to leaf pathogen in wheat. Scientific Reports 8: 9625.

Floss, D. S., Levy, J. G., Levesque-Tremblay, V., Pumplin, N. and Harrison, M. J. (2013) DELLA proteins regulate arbuscule formation in arbuscular mycorrhizal symbiosis. Proceedings of the National Academy of Sciences 110: 5025-5034.

Gautam, N., Mantha, A. K. and Mittal, S. (2014) Essential oils and their constituents as anticancer agents: A mechanistic view. BioMed Research International 2014: 1-24.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., Karimi, E. and Rahmat, A. (2014) Optimization of ultrasound-assisted extraction of flavonoid compounds and their pharmaceutical activity from curry leaf (*Murraya koenigii* L.) using response surface methodology. BMC Complementary and Alternative Medicine 14: 1-10

Giovannetti, M. and Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.

Harrison, M. J. (2005) Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annual Review of Microbiology 59: 19-42.

Hashem, A., Alqarawi, A. A., Radhakrishnan, R., Al-Arjani, A. B. F., Aldehaish, H. A., Egamberdieva, D. and Abd Allah, E. F. (2018) Arbuscular mycorrhizal fungi regulate the oxidative system, hormones and ionic equilibrium to trigger salt stress tolerance in *Cucumis sativus* L. Saudi Journal of Biological Sciences 25: 1102-1114.

Heidari, Z., Nazarideljou, M. J., Danesh, Y. R. and Khezrinejad, N. (2016) Morphophysiological and biochemical responses of *Zinnia elegans* to different irrigation regimes in symbiosis with *Glomus mosseae*. International Journal of Horticultural Science and Technology 3: 19-32.

Hristozkova, M., Gigova, L., Geneva, M., Stancheva, I., Vasileva, I., Sichanova, M. and Mincheva, J. (2017) Mycorrhizal fungi and microalgae modulate antioxidant capacity of basil plants. Journal of Plant Protection Research 54: 1-10.

Hyun, M. W., Yun, Y. H., Kim, J. Y. and Kim, S. H. (2008) Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. Plant Physiology and Biochemistry 46: 356-370.

Jaisinghani, R. N. (2017) Antibacterial properties of quercetin. Microbiology Research 8: 6877-13-14.

Jalali, P., Moattari, A., Mohammadi, A., Ghazanfari, N. and Pourghanbari, G. (2016) *Melissa officinalis* efficacy against human influenza virus (New H1N1) in comparison with oseltamivir. Asian Pacific Journal of Tropical Disease 6: 714-717.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

Jansa, J., Smith, F. A. and Smith, S. E. (2008) Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi? New Phytologist 177: 779-789.

Jin, H. R., Liu, J., Liu, J. and Huang, X. (2012) Forms of nitrogen uptake, translocation, and transfer via arbuscular mycorrhizal fungi: A review. Science China Life Sciences 55: 474-482.

Johari, J., Kianmehr, A., Mustafa, M. R., Abubakar, S. and Zandi, K. (2012) Antiviral activity of baicalein and quercetin against the *Japanese Encephalitis* virus. International Journal of Molecular Sciences 13: 16785-16795.

Jugran, A. K., Bahukhandi, A., Dhyani, P., Bhatt, I. D., Rawal, R. S., Nandi, S. K. and Palni, L. M. S. (2015) The effect of inoculation with mycorrhiza: AM on growth, phenolics, tannins, phenolic composition and antioxidant activity in *Valeriana jatamansi* Jones. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 15: 1036-1049.

Karagiannidis, N., Panou-Filotheou, H., Lazari, D., Ipsilantis, I. and Karagiannidou, C. (2010) Essential oil content and composition, nutrient and mycorrhizal status of some aromatic and medicinal plants of northern greece. Natural Product Communications 5: 823-830

Kawaguchi, M. and Minamisawa, K. (2010) Plant–microbe communications for symbiosis. Plant Cell Physiology 51: 1377-1380.

Khalid, M., Hassani, D., Bilal, M., Liao, J. and Huang, D. (2017) Elevation of secondary metabolites synthesis in *Brassica campestris* ssp. *chinensis* L. via exogenous inoculation of *Piriformospora indica* with appropriate fertilizer. Plos One 12: 1-18.

Khan, H. and Rauf, A. (2014) Medicinal plants: Economic perspective and recent developments. World Applied Sciences Journal 31: 1925-1929.

Khaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., Zitterl-Eglseer, K. and Novak, J. (2006) Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). Mycorrhiza 16: 443-446.

Kluga, A., Terentjeva, M., Kantor, A., Kluz, M., Puchalski, C. and Kacaniova, M. (2017) Antibacterial activity of *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Origanum vulgare* L. and *Malva mauritiana* against bacterial microflora isolated from fish. Advanced Research Life Science 1: 75-80.

Kobae, Y., Tamura, Y., Takai, S., Banba, M. and Hata, S. (2010) Localized expression of arbuscular mycorrhiza-inducible ammonium transporters in soybean. Plant Cell Physiology 51: 1411-1415.

Koksal, E., Bursal, E., Dikici, E., Tozoglu, F. and Gulcin, I. (2011) Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves. Journal of Medicinal Plants Research 5: 217-222.

Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. Physiologia Plantarum 103: 1-7.

Larose, G., Chenevert, R., Moutoglis, P., Gagne, S., Piche, Y. and Vierheilig, H. (2002) Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. Journal Plant Physiology 159: 1329-1339.

Lattanzio, V., Cardinali, A., Ruta, C., Fortunato, I. M., Lattanzio, V. M. T., Linsalata, V. and Cicco, N. (2009) Relationship of secondary metabolism to growth in oregano (*Origanum vulgare* L.) shoot cultures under nutritional stress. Environmental and Experimental Botany 65: 54-62.

Li, J. F., Heb, X. H., Li, H., Zheng, W. J., Liu, J. F. and Wang, M. Y. (2015) Arbuscular mycorrhizal fungi increase growth and phenolics synthesis in *Poncirus trifoliata* under iron deficiency. Scientia Horticulturae 183: 87-92.

Li, X., Zhang, L., Ahammed, G. J., Li, Z. X., Wei, J. P., Shen, C., Yan, P., Zhang, L. P. and Han, W. Y. (2017) Stimulation in primary and secondary metabolism by elevated carbon dioxide alters green tea quality in *Camellia sinensis* L. Scientific Reports 7: 1-12.

Lin, J. T., Chen, Y. C., Lee, Y. C., Hou, C. W. R., Chen, F. L. and Yang, D. J. (2012) Antioxidant, anti-proliferative and cyclooxygenase-2 inhibitory activities of ethanolic extracts from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. LWT-Food Science and Technology 49: 1-7.

Liu, H. G., Wang, Y. J., Hart, M., Chen, H. and Tang, M. (2016) Arbuscular mycorrhizal symbiosis regulates hormone and osmotic equilibrium of *Lycium barbarum* L. under salt stress. Mycosphere 7: 828-843.

Lopez-Raez, J. A., Flors, V., Garcia, J. M. and Pozo, M. J. (2010) AM symbiosis alters phenolic acid content in tomato roots. Plant Signaling and Behavior 5: 1138-1140.

Lopukhina, A., Dettenberg, M., Weiler, E. W. and Hollander-Czytko, H. (2001) Cloning and characterization of a coronatine-regulated tyrosine aminotransferase from Arabidopsis. Plant Physiology 126: 1678-1687.

Lu, N., Zhou, X., Cui, M., Yu, M., Zhou, J., Qin, Y. and Li, Y. (2015) Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi promotes the growth of *Morus alba* L. seedlings under greenhouse conditions. Forests 6: 734-747.

Mabrouki, H., Duarte, C. M. M. and Akretche, D. E. (2017) Estimation of total phenolic contents and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts of *Melissa officinalis* L. Arabian Journal for Science and Engineering 43: 3349-3357.

Martin, S. L., Mooney, S. J., Dickinson, M. J. and West, H. M. (2012) The effects of simultaneous root colonisation by three Glomus species on soil pore characteristics. Soil Biology and Biochemistry 49: 167-173.

Matkowski, A., Zielinska, S., Oszmianski, J. and Lamer-Zarawska, E. (2008) Antioxidant activity of extracts from

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

leaves and roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *S. przewalskii* Maxim., and *S. verticillata* L. Bioresource Technology 99: 7892-7896.

Miranda, D., Fischer, G. and Ulrichs, C. (2011) The influence of arbuscular mycorrhizal colonization on the growth parameters of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants grown in a saline soil. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 11: 18-30.

Miransari, M., Abrishamchi, A., Khoshbakht, K. and Niknam, V. (2014) Plant hormones as signals in arbuscular mycorrhizal symbiosis. Critical Reviews in Biotechnology 34: 123-133.

Mirjani, L., Salimi, A., Matinizadeh Razavic, M. K. and Shahbazid, M. (2019) The role of arbuscular mycorrhizal fungi on acclimatization of micropropagated plantlet *Satureja khuzistanica* Jam. by ameliorating of antioxidant activity and expression of PAL gene. Scientia Horticulturae 253: 364-370.

Mollavali, M., Bolandnazar, S. A., Schwarz, D. and Zaare Nahandi, F. (2015) Flavonol glucoside and antioxidant enzyme biosynthesis affected by mycorrhizal fungi in various cultivars of onion (*Allium cepa* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 64: 71-77.

Moradi, M. T., Karimi, A., Alidadi, S. and Hashemi, L. (2016) In vitro anti-adenovirus activity, antioxidant potential and total phenolic compounds of *Melissa officinalis* L. (Lemon Balm) extract. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 8: 1471-1477.

Moradkhani, H., Sargsyan, E., Bibak, H., Naseri, B., Sadat-Hosseini, M., Fayazi-Barjin, A. and Meftahizade, H. (2010) *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. Journal of Medicinal Plants Research 4: 2753-2759.

Nell, M., Votsch, M., Vierheilig, H., Steinkellner, S., Zitterl-Eglseer, K., Franza, C. and Novaka, J. (2009) Effect of phosphorus uptake on growth and secondary metabolites of garden sage (*Salvia officinalis* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 89: 1090-1096.

Ngonkeu, E. L. M., Nwaga, D., Tsetchoua, R., Mogo, A., Mongoue, A. F., Mballa, T. A. N., Manet, L. and Boyomo, O. (2017) Effect of quercetin and pectinase on spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi and biomass production of *Nicotiana tabacum* L. and *Calopogonium mucunoides* desv. Annual Research and Review in Biology 12: 1-11.

Ozsoy, N., Yilmaz-Ozden, T., Serbetci, T. and Akalin, E. (2017) Antioxidant, anti-inflammatory, acetylcholinesterase and thioredoxin reductase inhibitory activities of nine selected Turkish medicinal plants. Indian Journal of Traditional Knowledge 16: 553-561.

Pandey, D. K., Kaur, P. and Dey, A. (2018) Arbuscular mycorrhizal fungi: Effects on secondary metabolite production in medicinal plants. In: Fungi and their Role in Sustainable Development (eds. Gehlot, P. and Singh, J.) Pp. 507-538. Springer Nature, Singapore.

Phillips, J. M. and Hayman, S. D. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55: 158-161.

Pourghanbar, G., Nili, H., Moattari, A., Mohammadi, A. and Iraji, A. (2016) Antiviral activity of the oseltamivir and *Melissa officinalis* L. essential oil against avian influenza A virus (H9N2). Virus Disease 27: 170-178.

Requena, N., Serrano, E., Ocon, A. and Breuninger, M. (2007) Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. Phytochemistry 68: 33-40.

Ru, M., Wang, K., Bai, Z., Peng, L., He, S., Wang, Y. and Liang, Z. (2017) A tyrosine aminotransferase involved in rosmarinic acid biosynthesis in *Prunella vulgaris* L. Scientific Reports 7: 1-12.

Sadraei, H., Ghannadi, A. and Malekshahia, K. (2003) Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. Fitoterapia 74: 445-452.

Scervino, J. M., Ponce, M. A., Erra-Bassells, R., Vierheilig, H., Ocampo, J. A. and Godeas, A. (2005) Flavonoids exclusively present in mycorrhizal roots of white clover exhibit a different effect on arbuscular mycorrhizal fungi than flavonoids exclusively present in non-mycorrhizal roots of white clover. Journal of Plant Interactions 1: 1-15.

Sener, I., Gur, M., Verep, D., Guney, K. and Altuner, E. M. (2017) Antimicrobial activities and some flavonoids in extracts of some medicinal plants. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 51: 234-238.

Sharmila, R. and Manoharan, S. (2012) Anti-tumor activity of rosmarinic acid in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice. Indian Journal of Experimental Biology 50: 187-194.

Sieh, D., Watanabe, M., Devers, E. A., Brueckner, F., Hoefgen, R. and Krajinski, F. (2013) The arbuscular mycorrhizal symbiosis influences sulfur starvation responses of *Medicago truncatula*. New Phytologist 197: 606-616.

Singh, R. (2015) Medicinal plants: A review. Journal of Plant Sciences 3: 50-55.

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology 299: 152-178.

Soltani, E., Radjabian, T., Abrishamchi, P. and Talei, D. (2016) Physiological and biochemical responses of *Melissa officinalis* L. to nickel stress and the protective role of salicylic acid. Archives of Agronomy and Soil Science 63: 330-343.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

Song, F. Q. and Kong, X. S. (2012) Molecular process of arbuscular mycorrhizal associations and the symbiotic stabilizing mechanisms. African Journal of Microbiology Research 6: 870-88.

Song, Y., Chen, D., Lu, K., Sun, Z. and Zeng, R. (2015) Enhanced tomato disease resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. Frontiersin Plant Science 6: 1-13.

Songachan, L. S. and Kayang, H. (2018) Effects of Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on growth and yield of *Flemingia vestita* Benth. ex baker. International Journal of Agricultural Technology 14: 377-388.

Srivastava, S., Conlan, X. A., Cahill, D. M. and Adholeya, A. (2016) *Rhizophagus irregularis* as an elicitor of rosmarinic acid and antioxidant production by transformed roots of *Ocimum basilicum* in an in vitro co-culture system. Mycorrhiza 26: 1-12.

Stevens, K. J., Spender, S. W. and Peterson, R. L. (2002) Phosphorus, arbuscular mycorrhizal fungi and performance of the wetland plant *Lythrum salicaria* L. under inundated conditions. Mycorrhiza 12: 277-283.

Stevens, K. J., Wall, C. B. and Janssen, J. A. (2010) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on seedling growth and development of two wetland plants, *Bidens frondosa* L. and *Eclipta prostrata* (L.) grown under three levels of water availability. Mycorrhiza 21: 279-288.

Tepe, B. (2008) Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret and Aucher ex Bentham) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. Bioresource Technology 99: 1584-1588.

Tian, C., Kasiborski, B., Koul, R., Lammers, P. J., Bucking, H. and Shachar-Hill, Y. (2010) Regulation of the nitrogen transfer pathway in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Gene characterization and the coordination of expression with nitrogen flux. Plant Physiology 153: 1175-1187.

Torres, N., Hilbert, G., Antolin, M. C. and Goicoechea, N. (2019) Aminoacids and flavonoids profiling in tempranillo berries can be modulated by the arbuscular mycorrhizal fungi. Plants 8: 1-15.

Toussaint, J. P., Kraml, M., Nell, M., Smith, S. E., Smith, F. A., Steinkellner, S., Schmiderer, C., Vierheilig, H. and Novak, J. (2008) Effect of *Glomus mosseae* on concentrations of rosmarinic and caffeic acids and essential oil compounds in basil inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *basilica*. Plant Pathology 57: 1109-1116.

Trindade, R., Almeida, L., Xavier, L., Lins, A. L., Andrade, E. H., Maia, J. G., Mello, A., Setzer, W. N., Ramos, A. and Silva, J. K. (2019) Arbuscular mycorrhizal fungi colonization promotes changes in the volatile compounds and enzymatic activity of lipoxygenase and phenylalanine ammonia lyase in *Piper nigrum* L. 'Bragantina'. Plants 8: 1-15.

Trouvelot, S., Bonneau, L., Redecker, D., Tuinen, D. V. and Adrian, M. (2015) Arbuscular mycorrhiza symbiosis in viticulture: A review. Agronomy for Sustainable Development 35: 1449-1467.

Wang, S. X. and Hu, L. M. (2010) Anti-inflammatory activity of salvianolic acid b in microglia contributes to its neuroprotective effect. Neurochemical Research 35: 1029-1037.

Wang, Y., Wang, M., Li, Y., Wu, A. and Huang, J. (2018) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nitrogen uptake of *Chrysanthemum morifolium* under salt stress. Plos One 13: 1-15.

Wang, Y., Lin, J., Huang, S., Zhang, L., Zhao, W. and Yang, C. (2019) Isobaric tags for relative and absolute quantification-based proteomic analysis of *Puccinellia tenuiflora* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi reveal stress response mechanisms in alkali-degraded soil. Land Degradation and Development 30: 1584-1598.

Xu, D., Hu, M. J., Wang Y. Q. and Cui, Y. L. (2019) Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. Molecules 24: 1-15.

Xu, H., Lu, Y. and Tong, S. (2018) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of maize seedlings under salt stress. Emirates Journal of Food and Agriculture 30: 199-204.

Yadav, K., Aggarwal, A. and Singh, N. (2013) Arbuscular mycorrhizal fungi induced acclimatization and growth enhancement of *Glycyrrhiza glabra* L.: A potential medicinal plant. Agricultural Research 2: 43-47.

Yan, Q., Shi, M., Ng, J. and Wu, J. Y. (2006) Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. Plant Science 170: 853-858.

Yang, Y., Ou, X., Yang, G., Xia, Y., Chen, M., Guo, L. and Liu, D. (2017) Arbuscular mycorrhizal fungi regulate the growth and phyto-active compound of *Salvia miltiorrhiza* seedlings. Applied Sciences 7: 1-14.

Yurkov, A., Veselova, S., Jacobi, L., Stepanova, G., Yemelyanov, V., Kudoyarova, G. and Shishova, M. (2017) The effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* on cytokinin content in a highly mycotrophic *Medicago lupulina* line under low phosphorus level in the soil. Plant Soil and Environment 63: 519-524.

Zakerian, F., Abbaszadeh, B. and Rejali, F. (2014) Balm morphology under control of non-chemical sources of nutrients. International Journal of Biosciences 4: 279-284.

Zayova, E., Stancheva, I., Geneva, M., Hristozkova, M., Dimitrova, L., Petrova, M., Sichanova, M., Salamon, I. and Mudroncekova, S. (2017) Arbuscular mycorrhizal fungi enhance antioxidant capacity of in vitro propagated garden thyme (*Thymus vulgaris* L.). Symbiosis 72: 1-11.

Zeng, Y., Guo, L. P., Chen, B. D., Hao, Z. P., Wang, J. Y., Huang, L. Q., Yang, G., Cui, X. M., Yang, L., Wu, Z. X.,

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

Chen, M. L. and Zhang, Y. (2013) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and active ingredients of medicinal plants: Current research status and prospectives. Mycorrhiza 23: 253-65.

Zhao, H., Zhang, H. and Yang, S. (2014) Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. Food Science and Human Wellness 3: 183-190.

Zhao, R., Guo, W., Bi, N., Guo, J., Wang, L., Zhao, J. and Zhang, J. (2015) Arbuscular mycorrhizal fungi affect the growth, nutrient uptake and water status of maize (*Zea mays* L.) grown in two types of coal mine spoils under drought stress. Applied Soil Ecology 88: 41-49.

Zhu, X. C., Song, F. B., Liu, F. L., Liu, S. Q. and Tian, C. J. (2015) Carbon and nitrogen metabolism in arbuscular mycorrhizal maize plants under low-temperature stress. Crop and Pasture Science 66: 62-70.

Zou, Y. N., Srivastava, A. K., Wu, Q. S. and Huang Y. M. (2014) Increased tolerance of trifoliate orange (*Poncirus Trifoliata*) seedlings to waterlogging after inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. The Journal of Animal and Plant Sciences 24: 1415-1420.

Zubek, S., Rola, K., Szewczyk, A., Majewska, M. L. and Turnau, K. (2015) Enhanced concentrations of elements and secondary metabolites in *Viola tricolor* L. induced by arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil 390: 129-142.

Zubek, S., Stefanowicz, A. M., Błaszkowski, J., Niklinskad, M. and Seidler-Lozykowskae, K. (2012) Arbuscular mycorrhizal fungi and soil microbial communities under contrasting fertilization of three medicinal plants. Applied Soil Ecology 59: 106-115.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]

# Improvement of growth and stimulation of biosynthesis pathway of polyphenols in *Melissa officinalis* L. colonized by Arbuscular Mycorrhizal

**Seyedeh Zohreh Saderi[1], Parvaneh Abrishamchi[1*], Ali Ganjeali[1], Tayebeh Radjabian[2]**

**[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad**
**[2] Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran**
**(Received: 11/01/2020, Accepted: 08/04/2020)**

**Abstract**

The increasing demand for medicinal plants has emphasized the importance of the development of effective methods for enhancing the cultivation of these plants. The association of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi with medicinal plants has been found to alter the level of secondary metabolites by affecting the plant metabolism. Lemon balm (*Melissa officinalis* L.), is an important medicinal plant which belongs to Lamiaceae family that has been used since the Middle Ages for various medical purposes. In this study, the effects of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* symbiosis on growth, the content of some phenolic compounds and the activities of some enzymes responsible for polyphenols synthesis were investigated in lemon balm. Seeds were sown in a mixture of soil and fungal inoculum. After five months of growth under controlled condition, growth parameters, the contents of total phenols, flavonoids, phenolic acids and anthocyanins, the concentrations of rosmarinic acid, salvianolic acid B and caffeic acid and activities of phenylalanine ammonia lyase and tyrosine aminotransferase were investigated in the control and the AM plants. According to the results, the symbiosis of lemon balm with selective AM species was successful. The highest percentage of colonization and the improvement of growth parameters were observed in the plants inoculated with *G. mosseae*. Symbiotic plants showed more increased levels of polyphenols and enzymes activities compared to the control. The study revealed that colonization of plants with AM species not only improved growth, but also increased the content of polyphenols which is closely linked to the enzymes activities responsible for synthesis of these compounds. These results confirmed the importance of the mycorrhizal symbiosis in enhancing the nutritional and medicinal values of the plant.

**Key words:** Arbuscular mycorrhizal, *Melissa officinalis* L., Polyphenols, Symbiosis

Corresponding author, Email: abrisham@um.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.28.5 ]